

R. Zander · Institut für Physiologie und Pathophysiologie der Universität Mainz

Fehlender Wirksamkeitsnachweis von Hämoglobinlösungen als O₂-Träger am Beispiel der Arbeit von Horn et al.

Anaesthesist (1998) 47: 116–123

In diversen Publikationen wurde eine neue Hämoglobinlösung als Blutersatz für eine anämische Gewebe-Hypoxie mit angeblichen O₂-Träger-Eigenschaften vorgestellt, nämlich UPBH [8], HBOC [9], HBOC-201 [5, 6] oder HBOC-210 [4] (Biopure Corp. Boston, Mass., USA). Der erstmalige Einsatz dieses Präparates an 13 Patienten offenbarte allerdings negative Ergebnisse [6]: Der mittlere arterielle Druck stieg um 49%, der systemische Gefäßwiderstand um 69% und der Herzindex fiel um 25% mit der Folge, daß das O₂-Angebot um 21% und der O₂-Verbrauch um 24% abnahmen.

In einer neuen Veröffentlichung in dieser Zeitschrift [5] sollte nun gezeigt werden, daß diese Hb-Lösung geeignet ist, den Muskel unter ischämischer Hypoxie mit Sauerstoff zu versorgen. Am Beispiel eben dieser Publikation [5] wird aber bezweifelt, daß ein Wirksamkeitsnachweis erbracht wurde, weil das gewählte Modell und die benutzten Methoden dies nicht zulassen, die Nebenwirkungen willkürlich beurteilt werden und die Schlußfolgerungen nicht begründet sind. Dazu werden bevorzugt Publikationen dieser Zeitschrift herangezogen.

Muskel-pO₂ als geeignetes Modell?

Der mittlere pO₂ des Skelettmuskels ist die Resultierende aus dem Verhältnis von O₂-Angebot (proportional) zu O₂-Verbrauch (umgekehrt proportional). Leider zeigen die Meßergebnisse mit der auch hier [5] benutzten Methode

überwiegend paradoxe Ergebnisse, wie mit folgenden Beispielen gezeigt werden soll.

Der Median des Muskel-pO₂ nimmt bei 10 septischen Patienten unter HÄS-Infusion von 29 auf 36 mmHg zu, was als „effektive Mikrozirkulationsverbesserung“ interpretiert wird [11]. Der Muskel-pO₂ nimmt 1989 unter Hyperoxie ab [10]: Beim paO₂ von 93 mmHg beträgt der Median 43 mmHg und beim paO₂ von 357 mmHg nur noch 26 mmHg. Jetzt in 1998 [3] aber nimmt der Muskel-pO₂ von Normoxie (paO₂ 119 mmHg) zu Hyperoxie (paO₂ 349 mmHg) unter Isofluran von 25 auf 49 mmHg zu, diese „Verbesserung“ [3] wird auf eine Vasodilatation unter Isofluran zurückgeführt. Unter Berücksichtigung der Ausgangswerte könnte man genausogut von einer Normalisierung des Muskel-pO₂ sprechen, eine Abnahme des O₂-Verbrauchs durch Isofluran wird von den Autoren nicht in Erwägung gezogen. Unter Hypothermie auf ca. 30 °C und ECC nimmt der Muskel-pO₂ von 25 auf 14 mmHg ab, bei der Hälfte der Patienten haben pO₂-Werte zwischen 0 und 5 mmHg die größte Häufigkeit, allerdings ohne postoperative Komplikationen [2].

Eine operative Gefäßrekonstruktion bei peripherer arterieller Verschlusskrankheit wird mit einem unerwarteten Abfall des Muskel-pO₂ beantwortet, ebenso eine therapeutische Sympathikolyse vor Gefäßrekonstruktion [7]. Unter Hämodilution nimmt der Muskel-pO₂ nach Gabe von Blut von 32 auf 24 mmHg und der O₂-Verbrauch des Muskels um 36,5% ab, während der pO₂

nach Zufuhr einer Hb-Lösung von 33 auf 36 mmHg und der O₂-Verbrauch sogar um 71% zunimmt [5].

Diese wenigen Beispiele belegen, daß die diagnostische Aussagekraft und die klinische Relevanz des Muskel-pO₂, insbesondere seine „Normalwerte“, als minimal einzustufen sind.

Die Erzeugung einer Hypoxie im ruhenden (!) Skelettmuskel mit nachweisbaren strukturellen oder funktionellen Folgen dürfte äußerst schwierig sein: Nach 1–2 Stunden Aortenclamping unter klinischen Bedingungen finden sich keine Befunde dafür; der venöse Muskel-pO₂ geht bei Sportlern unter maximaler Belastung auf 0–5 mmHg zurück; unter Hämodilution auf einen Hct-Wert von 10% werden nur normale Laktatkonzentrationen [9] gemessen, ebenso bei Reduktion der Durchblutung auf nur noch ca. 5% des Ausgangswertes [5].

Ein mittlerer Muskel-pO₂ von 10 oder 35 mmHg bei einem venösen pO₂ von 55 oder 60 mmHg ist Beleg dafür, daß dieser Muskel keine Hypoxie aufweist [5]. Die Konsequenz: Der Muskel ist ein ungeeignetes Modell einer Gewebshypoxie.

Wenn eine Substanz, hier eine Hb-Lösung, zur Therapie einer Gewebshypoxie getestet werden soll, dann an einer Hypoxie des Myocards oder des Zentralnervensystems.

Prof. Dr. R. Zander
Institut für Physiologie und Pathophysiologie,
Universität Mainz,
Saarstraße 21, D-55099 Mainz

Methodik

Die Messung von freiem Hb (fHb) ist die entscheidende Voraussetzung zur Beurteilung der wirksamen Konzentrationen im Plasma bzw. Blut und ermöglicht zusätzlich, den bis heute nicht geklärten Ausscheidungsmechanismus zu beschreiben. Die Messung bereitet deshalb Schwierigkeiten, weil die Konzentrationen mit 1–2 g/dl nur etwa 10% des Normalwertes ausmachen und die Methoden darauf nicht ausgelegt sind. Anhand der Dosierungen und dem zu erwartenden Verteilungsraum Plasma kann dieses Problem wie folgt beschrieben werden.

Wenn bei Patienten mit einem angenommenen Plasmavolumen von 42 ml/kg KG nach Gabe von 3 ml Hb-Lösung/kg KG mit einer cHb von 13 g/dl eine mittlere Konzentration von $1,18 \pm 0,04$ g/dl Plasma gefunden wurde [6], dann sind das 36% mehr als zu erwarten gewesen wäre, nämlich 0,87 g/dl. Zur Messung von fHb wurde das Hämoxymeter OSM3 (Radiometer Kopenhagen) eingesetzt, was in diesem Konzentrationsbereich nicht mehr die übliche Genauigkeit haben dürfte.

Wenn im Hundeversuch [5] 0,2 l einer Hb-Lösung mit einer cHb von 13 g/dl infundiert wird, dann müßte das fHb nach Verdünnung in 2,7 l ($2,5 + 0,2$ l) Blut 0,96 g/dl Blut betragen, wenn ein Blutvolumen von 86,2 ml/kg [1], also 2,5 l bei 29 kg KG der Hunde angenommen wird.

Gemessen aber wurde ein mittlerer Wert von 2,07 g/dl fHb, hier bezogen auf 1 Liter Blut. Diese Überschätzung um mehr als 100% ist entweder methodisch bedingt, die eingesetzte Methode wird nicht mitgeteilt, oder es wurde vergessen, das im Plasma gemessene fHb mit dem mittleren Hämatokrit von 23,7% auf Blut umzurechnen, was die Überschätzung auf 65% reduziert hätte.

Ein Wirksamkeitsnachweis erfordert zusätzlich den Nachweis von Met-Hämoglobin (MetHb), da freies Hb im Blut spontan oxidiert wird. Dieser Nachweis ist schwierig, da ein Hämoxymeter bei den sehr kleinen Gesamt-Hb-Konzentrationen Probleme entwickelt. Hinweise auf eine MetHb-Bildung finden sich trotzdem: Wenn der berechnete arterielle O_2 -Gehalt bei Hb-Lösungen um 15% unter dem für Blut liegt [9], dann könnte MetHb, aber auch die O_2 -Bindungskurve (Abb. 1) dafür verantwortlich sein.

Wenn im Tierversuch [8] eine extreme Hämodilution mit Hb-Lösung mit einer cHb von 13 g/dl (entsprechend einer cO_2 von 18 ml/dl bei vollständiger Oxygenation) beginnend bei einem gemessenen arteriellen O_2 -Gehalt (caO_2) von 9,3 ml/l durchgeführt wird, dann müßte die caO_2 der Tiere im Verlauf dieser Hämodilution von 9,3 ml/dl auf 18 ml/dl ansteigen. Tatsächlich aber blieb die caO_2 praktisch konstant [8], d.h. entweder verläßt das fHb etwa zur Hälfte die Blutbahn oder die MetHb-Konzentration steigt so stark an, daß die caO_2 davon nicht profitiert.

Nebenwirkungen

Offensichtlich wirkt freies Hämoglobin als NO-Fänger, daher die Bildung von Met-Hämoglobin, mit der Folge, daß der pulmonale, der systemische oder der lokale Gefäßwiderstand zunimmt, wie bereits oben für den Menschen beschrieben [6]. Die Abnahme der Muskeldurchblutung um 38% unter Hämodilution mit Hb-Lösung im Vergleich zur Durchblutungszunahme unter HÄS um 62% als „ökonomische Reduktion“ [8] zu bezeichnen, ist daher gewagt. Ebenso gewagt ist die Behauptung, daß „die hämodynamischen Parameter keine Gruppenunterschiede zeigten, lediglich der mittlere Pulmonalarteriendruck höher als in der Vergleichsgruppe lag“

[5]. Hintergrund: Der pulmonale Gefäßwiderstand steigt in der Hb-Gruppe um 63% während er in der HÄS-Gruppe um 17% fällt, der mittlere pulmonalarterielle Druck steigt im Mittel von 12,0 auf 18,2 mmHg in der Hb-Gruppe und bleibt in der HÄS-Gruppe mit 12,4 gegenüber 11,8 mmHg praktisch konstant. Schließlich steigt der Cardiac Index in der Kontrollgruppe unter Stenose um etwa 20% an, in der Hb-Gruppe aber um fast 50%, ist dies jetzt eine „ökonomische Steigerung“?

Wirksamkeitsnachweis

Der Wirksamkeitsnachweis kann prinzipiell nur dadurch erfolgen, daß die O_2 -Abgabe vom Blut an das Gewebe unter in vivo-Bedingungen nachgewiesen wird.

Dieser Versuch wurde jetzt [5] erstmals wie folgt unternommen:

Mit einer angenommenen arteriellen O_2 -Sättigung des fHb von 95% (?), dem gemessenen fHb von 2,1 g/dl (?) und der Hüfner-Zahl von 1,39 ml/g wird ein arterieller O_2 -Gehalt berechnet, ebenso mit dem mittleren Muskel- pO_2 (?) von 32 mmHg unter Annahme einer sO_2 des fHb von ca. 40% ein venöser O_2 -Gehalt, um dann die so erhaltene $avDO_2$ in Prozent der gemessenen Gesamt- $avDO_2$ auszudrücken.

Ergebnis [5]: Der Anteil des fHb beträgt 42% der $avDO_2$ und damit des O_2 -

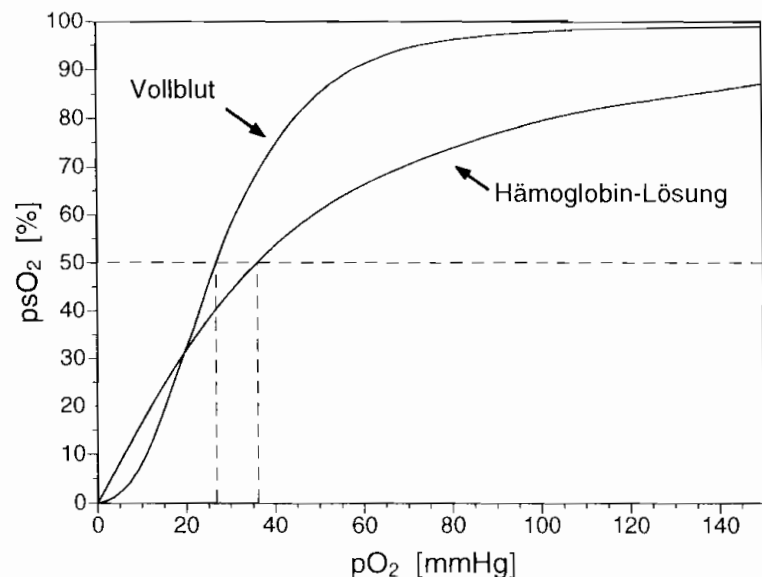


Abb. 1 ▲ Sauerstoffbindungskurve von Vollblut im Vergleich zu einer Hb-Lösung (nach Herstellerangaben) für pH 7,40 und 37 °C als partielle bzw. funktionelle O_2 -Sättigung (psO_2 , %) in Abhängigkeit vom O_2 -Partialdruck (pO_2 , mmHg): Der Halbsättigungsdruck der Hb-Lösung von 36 mmHg liegt deutlich höher als der physiologische von 26,5 mmHg, die S-Form der physiologischen Bindungskurve des Blutes ist durch eine Hyperbel ersetzt

Verbrauchs. Die Autoren benutzen dabei eine vom Hersteller gelieferte O₂-Bindungskurve und zitieren deren Halbsättigungsdruck von 36 mmHg, ohne dem Leser diese O₂-Bindungskurve vorzustellen.

Um dieses nachzuholen, ist die vom Hersteller gelieferte O₂-Bindungskurve im Vergleich zu der von Normalblut in Abb. 1 dargestellt, beide Kurven gelten für einen pH von 7,4 und 37 °C. Anhand dieser Abbildung soll der fragliche Wirksamkeitsnachweis erneut vorgenommen werden [12]: Bei einem mittleren gemessenen paO₂ von 131 mmHg beträgt die saO₂ 84% und die svO₂ bei einem mittleren gemessenen pvO₂ (nicht Muskel pO₂!) von 61 mmHg noch 65%. Zusammen mit der mittleren gemessenen Konzentration des fHb von 2,07 g/dl und der Hüfner-Zahl von 1,39 ml/g ergibt sich daraus eine avDO₂ für das fHb von 0,55 ml/dl, also nur 13,6% der mittleren Gesamt-avDO₂ von 4,03 ml/dl.

Somit reduziert sich der „Wirksamkeitsanteil“ der Hb-Lösung von 42 auf nur noch 14% im Optimalfalle, d.h. zugunsten der Autoren bzw. des Herstellers wurde mit der um mehr als 100% zu hohen Konzentration des fHb (s.o.) und einem Anteil von MetHb am fHb von unwahrscheinlichen 0% (s.o.) gerechnet.

Literatur

- Altman PL, Dittmer DS (eds) (1974) **Biology Data Book**, 2nd. edn, vol. III. Federation of American Societies for Experimental Biology, Bethesda USA
- Boekstegers P, Fleckenstein W, Rosport A, Ruschewsky W, Braun U (1988) **Überwachung der Sauerstoffversorgung des Skelettmuskels und der Gesamtsauerstoffaufnahme bei koronarchirurgischen Eingriffen.** *Anaesthesist* 37:287–296
- Burmeister MA, Horn E-P, Redmann G, Knoll K, Standl T, Schulte am Esch J (1998) **Erhöhung der Sauerstoffspannung im Skelettmuskel durch Steigerung der inspiratorischen Sauerstoffkonzentration unter Isofluran.** *Anästh Intensivmed Notfallmed Schmerzther [Suppl 3]:S 170*
- Horn E-P, Standl Th, Wilhelm S, Schulte am Esch J (1995) **Bovine Hämoglobinlösung (HBOC-201) verbessert den Gewebs-pO₂ des Skelettmuskels bei 95%iger arterieller Stenose im Vergleich zu 6% Hydroxyethylstärke 200000/0,5.** *Anaesthesist* 44:902–903
- Horn E-P, Standl T, Wilhelm S, Jacobs EE, Freitag U, Freitag M, Schulte am Esch J (1998) **Bovines Hämoglobin HBOC-201 verhindert eine Reduktion des Sauerstoffpartialdrucks im poststenotischen Skelettmuskel.** *Anaesthesist* 47:116–123
- Kasper S-M, Walter M, Grüne F, Bischoff A, Erasmi H, Buzello W (1996) **Effects of a hemoglobin-based oxygen carrier (HBOC-201) on hemodynamics and oxygen transport in patients undergoing preoperative hemodilution for elective abdominal aortic surgery.** *Anesth Analg* 83:921–927
- Krüger U, Schäfer R, Wagner K, Albrecht DM, Hohlbach G (1990) **Muskelgewebesauerstoffdrucke nach Sympathikolyse vor und nach gefäßchirurgischen Eingriffen bei Patienten mit pAVK.** *Anaesthesist* 39 [Suppl 1]:S 92
- Standl Th, Reeker W, Kochs E, Schulte am Esch J (1994) **Gewebs-pO₂-Veränderungen im Skelettmuskel unter kompletter isovolämischer Dilution mit einer bovinen Hämoglobinlösung im Vergleich zu 6% Hydroxyethylstärke 200000/0,5.** *Anaesthesist* 43:800–801
- Standl T, Horn P, Wilhelm S, Greim C, Freitag M, Freitag U, Sputtek A, Jacobs E, Schulte am Esch J (1996) **Bovine haemoglobin is more potent than autologous red blood cells in restoring muscular tissue oxygenation after profound isovolaemic haemodilution in dogs.** *Can J Anaesth* 43:714–723
- Steinberg B, Bause H, Wiedemann S, Schulte am Esch J (1989) **Veränderungen der Sauerstoffspannung im Skelettmuskel in Abhängigkeit vom arteriellen Sauerstoffpartialdruck beim Intensivpatienten.** *Anaesthesist* 38 [Suppl] 485
- Steinberg B, Kochs E, Bause H, Schulte am Esch J (1989) **Einflüsse von niedermolekularer Hydroxyäthylstärke (HÄS 40) im Vergleich zu Ringer-Lösung auf die Sauerstoffspannung des Skelettmuskels bei septischen Patienten.** *Anästh Intensivther Notfallmed* 24:377–381
- Zander R (1991) **Calculation of O₂ concentration.** In: Zander R, Mertzlufft F (eds) *The oxygen status of arterial blood.* Karger Basel, pp 203–208

T. Standl · E.-P. Horn · J. Schulte am Esch

Erwiderung auf die vorstehenden Bemerkungen von R. Zander, Mainz

In der Fragestellung, die dem Leserbrief von R. Zander vorangestellt ist, werden hämodynamische Veränderungen während Hämodilution mit der bovinen Hämoglobin-Lösung HBOC-201 als „negativ“ bezeichnet. In der Tat beobachtet man – wie im Falle der zitierten Studie [1] und durch eigene Untersuchungen [2] nachgewiesen – einen Anstieg des arteriellen Mitteldrucks und des systemischen Gefäßwiderstands um

durchschnittlich 18% und 40% bzw. einen Abfall des Herzminutenvolumens (HMV) um etwa 15% im Vergleich zum Ausgangswert bei Hämodilution mit HBOC-201. Vasokonstriktion ist ein bekannter Nebeneffekt aller Hämoglobin-Lösungen und wird in erster Linie durch eine Bindung von Stickstoffmonoxid (NO) verursacht [3]. Die beobachteten hämodynamischen Nebeneffekte können jedoch nicht pauschal als „ne-

gativ“ bezeichnet werden, da sich ein Anstieg von SVR und MAP in klinischen Situationen einer verstärkten perioperativen Blutung oder in der prähospitalen Therapie des hämorrhagischen Schocks durchaus als Vorteil erweisen

Priv.-Doz. Dr. T. Standl
Klinik für Anästhesiologie,
Universitäts-Krankenhaus Eppendorf,
Martinistraße 52, D-20246 Hamburg

können. Neuere Studien an septischen Tieren und erste Resultate an septischen Patienten lassen ebenfalls einen günstigen Einfluß von Hämoglobin-Lösungen auf die Hämodynamik vermuten [4, 5]. In den zitierten klinischen Studien, einer neueren Studie mit Applikation von höheren Dosen von HBOC-201 [6] sowie bei bisher nicht veröffentlichten Anwendungen der Substanz bei etwa 100 kardiologischen Patienten ist kein Fall einer kardialen Dekompensation oder HBOC-201-bedingten kardialen Ischämie aufgetreten.

Da die DO_2 und VO_2 – zumindest in klinischen Studien – errechnete Parameter sind, in die das (reduzierte) HMV als Faktor eingeht, wird sich gerade bei Anwendung geringer Dosen von Hämoglobin-Lösungen keine rechnerische Erhöhung von DO_2 und VO_2 nachweisen lassen. Dies stellt aber – entgegen den Behauptungen von Zander – keinen Beweis für die Unwirksamkeit der Sauerstoffversorgung des Gewebes durch HBOC-201 dar.

Da es für den Leser schwierig sein mag, die von Zander zitierten Ergebnisse unterschiedlicher tierexperimenteller und klinischer Studien mit Hämoglobin-Lösungen, respektive HBOC-201, zu differenzieren, haben wir uns im Folgenden darauf beschränkt, Erklärungen zur tierexperimentellen Stenosestudie zu geben. In dieser Studie [7] untersuchten wir Veränderungen des Gewebs-Sauerstoffpartialdrucks (tpO_2) im poststenotischen Muskel nach Hämodilution mit HBOC-201. Die tpO_2 -Messung erfolgte mit der polarographischen Feinnadelsonde nach Fleckenstein im Muskelgewebe. Diese Bestimmung des tpO_2 im Skelettmuskel ist inzwischen eine anerkannte, zuverlässige und hervorragend reproduzierbare Meßmethode zur vergleichenden Interpretation oder Verlaufskontrolle des tpO_2 . Dies belegen Publikationen zu den unterschiedlichsten Fragestellungen im deutschen und internationalen Schrifttum, von denen nur einige beispielhaft genannt seien [8–10]. Als wichtigstes Ergebnis der Studie zeigte sich, daß HBOC-201 den Abfall des tpO_2 im poststenotischen Muskelgewebe verhindern kann, wenn es vor Beginn der Stenosierung appliziert wurde. Eine Verschiebung des Sauerstoff-Histogramms nach links zu niedrigen tpO_2 -Werten war im Gegensatz zur Kontrollgruppe unter Stenosebedingun-

gen mit HBOC-201 nicht nachweisbar. Besonders erwähnenswert ist das Fehlen von Meßwerten unter 10 mmHg in der HBOC-201-Gruppe, so daß die Annahme fehlender hypoxischer Bezirke im poststenotischen Muskel gerechtfertigt erscheint.

Die von Zander zum Nachweis der Widersprüchlichkeit der jeweiligen Untersuchungsbefunde der tpO_2 -Messung im Skelettmuskel zitierten Studien [11–14] können nicht miteinander verglichen werden und eignen sich somit nicht für den Beweis, der Muskel per se sei als Modell zur tpO_2 -Messung ungeeignet. Schon die Heterogenität der untersuchten Patienten und Untersuchungsbedingungen der verschiedenen Studien verbietet einen derartigen Vergleich der Ergebnisse. Während es sich bei den zuerst zitierten Studien um Untersuchungen [11–12] an septischen Intensivpatienten handelte, wurden in der neuesten Studie [13] gesunde Patienten in Intubationsnarkose mit Isofluran untersucht. Während die erste Studie eine signifikante Rechtsverschiebung der tpO_2 -Histogramme zu höheren Werten nach Infusion von HÄS im Vergleich zu Ringer-Lösung nachwies [11], konnte in der zweiten Studie gezeigt werden, daß eine arterielle Hyperoxie offensichtlich über eine reaktive Vasokonstriktion zur Linksverschiebung der tpO_2 -Histogramme führte [12]. Die physiologisch reaktive Vasokonstriktion wird offenbar durch die vasodilatierende Wirkung des Isofluran aufgehoben [13]. Diese klinischen Ergebnisse sind weder untereinander noch mit tierexperimentellen Ergebnissen unter nahezu komplettem Blutaustausch mit HBOC-201 vergleichbar [14].

Die Skelettmuskulatur stellt schon aufgrund ihres prozentual hohen Anteils an der Körpermasse von Mensch und Säugetier einen repräsentativen Ausschnitt der Sauerstoffversorgung des Gesamtorganismus dar, auch wenn der tpO_2 des Skelettmuskels bekanntlich von zahlreichen Faktoren wie Temperatur, Muskelaktivität, Blutdruck, Durchblutung, arterieller O_2 -Spannung etc. abhängt. Es ist daher nachgerade zu erwarten, daß verschiedene Untersucher in unterschiedlichen Studien an nicht vergleichbaren Patienten unterschiedliche Ergebnisse produzieren.

Die Methode der tpO_2 -Messung im Skelettmuskel kann somit nur innerhalb

eines bestimmten Modells unter standardisierten Bedingungen (Temperatur, Relaxierung, Hämodynamik) entweder eine Aussage über Veränderungen der durchschnittlichen tpO_2 -Werte im Verlauf eines definierten Beobachtungszeitraums innerhalb einer Gruppe oder im Vergleich zu einer Kontrollgruppe machen. Wir haben daher in unserer Arbeit sehr vorsichtig von „Veränderungen des tpO_2 “ unter prophylaktischer Gabe von HBOC-201 oder therapeutischer Applikation von HÄS gesprochen. Da wir wissen, daß ein Abfall des Muskel- tpO_2 nicht immer mit einer Hypoxie gleichzusetzen ist, waren wir mit der Interpretation der tpO_2 -Werte hinsichtlich „Verbesserung oder Verschlechterung der Oxygenierung“ des Muskels ebenfalls zurückhaltend und haben unser Modell auch hinsichtlich der Stenosedauer sowie einer möglichen Beeinflussung der Gewebsoxygenierung durch Kollateralen kritisch diskutiert.

Ziel unserer Studie war der Nachweis von poststenotischem Transport und Abgabe von Sauerstoff an kritisch perfundiertes Muskelgewebe. Dies ist mit HBOC-201 nachgewiesenermaßen möglich, wie die unveränderten tpO_2 -Werte unter Stenose eindrucksvoll belegen. Ohne auf die schwierige Diskussion der Qualität der Gewebsoxygenierung in dieser Studie eingehen zu wollen, bleibt das völlige Fehlen von tpO_2 -Werten unterhalb von 10 mmHg unter Stenosebedingungen nach HBOC-201-Anwendung ein Indiz für eine adäquate Sauerstoffversorgung des Gewebes. Die 10%-Perzentile, die als untere Grenze für eine quantitative Verlaufsbeurteilung von Verschiebungen der Sauerstoff-Histogramme angesehen werden kann, war in der HBOC-201-Gruppe unter Stenosebedingungen signifikant höher als in der Vergleichsgruppe.

Bei der Berechnung der zu erwartenden Konzentration an freiem, plasmatischem Hämoglobin (=HBOC-201, f-Hb) darf nicht das Volumen des Vollblutes, sondern nur das zu diesem Meßpunkt angenommene Plasmavolumen als Grundlage genommen werden. Dies beträgt bei einem Tier mit 29 kg grob geschätzt etwa 1,15 l. Nach Hämodilution auf einen Hkt von 20% steigt das Plasmavolumen rechnerisch auf 1,8 l an. In dieses Plasmavolumen werden 200 ml HBOC-201 (=26 g Hb) infundiert, was zu einer errechneten Konzentration

von 1,3 g/dl freiem Hämoglobin führen müßte. Trotz konstanter Füllungsdrücke am Herzen während des gesamten Versuches haben wir jedoch letztlich keinen Beweis für ein konstantes intravasales Blut- und Plasmavolumen. Mit der Hämodilution verschieben sich die ohnehin nur näherungsweise durch Formeln und unter physiologischen Bedingungen errechneten Flüssigkeitsvolumina (z.B. Blutvolumen=Körpergewicht \times 0,08) zwischen Intravasalraum und Interstitium kontinuierlich. Da die Meßgenauigkeit bei der Bestimmung des $Hb \pm 0,2$ g/dl betrug, muß die Differenz zwischen errechneter und gemessener Konzentration von f-Hb dem nur ungenau kalkulierbaren Plasmavolumen zugeschrieben werden.

Für die Sauerstoffversorgung des Gewebes sind Parameter wie der arterielle O_2 -Partialdruck, das arterielle O_2 -Angebot oder die Hämoglobinkonzentration in diesem Versuch von zweitrangiger Bedeutung. Mit der Messung des tpO_2 im Muskel ist der Schritt zu einem wesentlich repräsentativeren Parameter vollzogen worden, der eine quantitative Aussage über den pO_2 jenseits des Transportmediums Blut, nämlich im Zielorgan erlaubt. Letztlich zählt für das poststenotische Gewebe hinsichtlich passagerer oder permanenter Läsion unter Stenosebedingungen der vorhandene Gewebs- O_2 -Partialdruck.

Für die Oxygenierung des Muskelgewebes ist es im vorliegenden Modell obendrein nicht relevant, ob die tatsächliche Konzentration von f-Hb 1,9 oder 1,3 g/dl betrug, da frühere Versuche nachgewiesen haben, daß bereits ein Anstieg des f-Hb um 0,7 g/dl durch HBOC-201 in der Lage war, einen durch profunde Hämodilution mit HÄS um 50% abgefallenen mittleren tpO_2 wieder auf Ausgangswerten zu etablieren [15].

Oxidation von HBOC-201 und eine daraus resultierende Methämoglobinbildung spielen im Akutversuch wie im vorliegenden Stenosemodell nur eine vernachlässigbar untergeordnete Rolle. Bei Langzeitanwendung wird ein Teil des HBOC-201 zu Met-Hb oxidiert, die Gesamtkonzentration an Met-Hb betrug in klinischen Untersuchungen maximal 0,2 g/dl 24 h nach Hämodilution mit 0,4 g/kg KG HBOC-201 [16].

Die Differenz zwischen errechnetem und gemessenem Sauerstoffgehalt durch HBOC-201 erklärt sich durch die

O_2 -Bindungskurve von HBOC-201, das auch bei einem $pO_2 > 100$ mmHg maximal zu 90% gesättigt ist.

Hämodynamische Effekte von HBOC-201 wurden bereits eingangs besprochen. In der vorliegenden Studie zur poststenotischen Muskeloxygenierung unterschieden sich die hämodynamischen Parameter lediglich beim pulmonalarteriellen Mitteldruck signifikant. Andere Parameter wie SVR und PVR zeigten einen nicht signifikanten Trend zu höheren Werten nach HBOC-201-Applikation. Die vorangehende Hämodilution auf einen Hkt von 20% mag hier die hämodynamischen Reaktionen nach HBOC-Applikation mitigierte haben. Dennoch erscheint die Schlußfolgerung gerechtfertigt, daß in dieser speziellen Untersuchung „die hämodynamischen Parameter mit Ausnahme des MPAD keine Gruppenunterschiede zeigten“.

Die von R. Zander vorgelegten Berechnungen führen im Falle des Stenosemodells nicht weiter, da unter Anwendung von Hämoglobin-Lösungen eine veränderte Sauerstoffkinetik im Kapillargebiet stattfindet. Eine berechnete $avDO_2$ für HBOC-201 von 0,56 ml/dl entspricht tatsächlich nur einem errechneten Anteil von 13% an der gemessenen Gesamt- $avDO_2$. Die direkte Bestimmung der arteriellen und venösen O_2 -Konzentration mit der O_2 -spezifischen Methode des Lex- O_2 -Con-Gerätes (Fa. Lexington, Massachusetts, USA) ist im Gegensatz zu diesen Berechnungen eine sehr genaue Meßmethode und sollte unsicheren Kalkulationen mit ungesicherten Parametern (Hüfnerzahl) vorgezogen werden. Diese Methode zur Messung der O_2 -Konzentration mittels Lex- O_2 -Con wurde in unserem Versuch angewendet, so daß die daraus errechnete $avDO_2$ als zuverlässig gelten kann. Wiederum kommt es jedoch vor allem auf die Unterschiede zur Vergleichsgruppe (HÄS) an, in der signifikant niedrigere $avDO_2$ -, O_2 -Extraktions- und tpO_2 -Werte als in der HBOC-201-Gruppe gemessen wurden.

All diese Berechnungen lassen aber außer acht, daß HBOC-201 bei der Kapillarpassage im poststenotischen Muskel nicht nur etwa 20% des von HBOC-201 gebundenen Sauerstoffs abgibt (bei einem Abfall des pO_2 von 128 mmHg arteriell auf 63 mmHg venös), sondern offenbar zu einer vermehrten und er-

leichterten Freisetzung von O_2 aus Erythrozyten führt. Das bedeutet, daß die $avDO_2$ von 4,2 ml/dl nicht nur HBOC-201 zuzuschreiben ist, sondern auch einer durch HBOC-201 bewirkten erhöhten erythrozytären O_2 -Abgabe. Die unter physiologischen Bedingungen ermittelte O_2 -Bindungskurve für intraerythrozytäres Hämoglobin wird unter dem Einfluß von HBOC-201 im Sinne einer Rechtsverschiebung verändert.

Diese Interpretation wird durch Daten von Page et al. [17] gestützt, die nach Ersatz von 10% des ursprünglichen Blutvolumens durch HBOC-201 einen signifikant stärkeren Abfall der fraktionellen O_2 -Sättigung im Vollblut, das eine artifiziale Kapillare durchströmte, nachgewiesen haben. Untersuchungen von Federspiel et al. [18, 19] zeigen, daß der Abstand zwischen den Erythrozyten untereinander in direktem Zusammenhang mit der O_2 -Abgabefähigkeit durch die roten Blutkörperchen an das Gewebe steht. Je größer dieser Abstand ist, desto schwieriger wird die O_2 -Diffusion, da der kapilläre Massentransferkoeffizient mit steigendem Abstand der Erythrozyten abnimmt. Dies entspricht einer Zunahme des intrakapillären Widerstands des O_2 -Flusses. Gleiches gilt für den Abstand der Erythrozyten vom Gefäßendothel. Den Ergebnissen der Studie zufolge besitzt jeder O_2 -transportierende Partikel einen Aktionsradius, eine „zone of influence“ für die O_2 -Freisetzung. Der pO_2 im Plasma nimmt in einem Abstand von $\sim 5 \mu m$ vom Erythrozyten auf 0 mmHg ab [20]. Hämoglobin-Lösungen wie HBOC-201 vermindern diesen Abstand zwischen den Erythrozyten und dem Gefäßendothel auf nahezu Null, wie wir im Tierversuch anhand eines elektronenmikroskopischen Schnitts durch eine Glomerulumkapillare zeigen konnten [21]. Durch diese signifikante Reduktion der O_2 -freien Zone zwischen Erythrozyten und Endothel bzw. Gewebe wird die Freisetzung von O_2 aus Erythrozyten sowie die plasmatische Diffusion von O_2 ins Gewebe durch HBOC-201 als Brückenglied erleichtert [22].

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß sich Resultate tierexperimenteller Untersuchungen mit Hämoglobin-Lösungen aufgrund unterschiedlicher Wirkmechanismen und substratspezifischer Interaktionen nur unzureichend mit herkömmlichen Be-

rechnungen erfassen lassen. Als gesicherte Meßparameter können in dieser tierexperimentellen Untersuchung die Bestimmung der arteriellen und venösen Sauerstoffkonzentration und des poststenotischen Sauerstoffpartialdruckes im Skelettmuskel angeschlossen werden. Die Ergebnisse der Sauerstoffpartialdruckmessung belegen zweifelsfrei eine adäquate Oxygenierung ohne nachweisbar hypoxische Bezirke im poststenotischen Muskel unter HBOC-201-Applikation.

Wir hoffen mit unseren Ausführungen einen Beitrag zur Klärung kontroverser Ansichten gegeben zu haben. Um den Umfang einer Stellungnahme zum Leserbrief nicht zu sprengen, verweisen wir ansonsten auf das nachfolgende Literaturverzeichnis.

Literatur

1. Kasper SM, Walter M, Grüne F, Bischoff A, Erasmi H, Buzello W (1996) **Effects of a hemoglobin-based oxygen carrier (HBOC-201) on hemodynamics and oxygen transport in patients undergoing preoperative hemodilution for elective abdominal aortic surgery.** *Anesth Analg* 83:921–927
2. Standl T, Wilhelm S, Horn EP, Burmeister M, Gundlach M, Schulte am Esch J (1997) **Präoperative Hämodilution mit bovinem Hämoglobin: Akute hämodynamische Auswirkungen bei Patienten in der Leberchirurgie.** *Anaesthesist* 46:763–770
3. Matheson B, Razyńska A, O’Hearne M, Bucci E (1998) **Renal response to hemodilution with albumin or crosslinked bovine hemoglobin: role of nitric oxide.** *J Lab Clin Med* 132:47–53
4. Fischer SR, Bone HG, Traber DL (1997) **Effects of hemoglobin in sepsis.** In: Vincent JL (ed.): *Yearbook of intensive care and emergency medicine.* Springer, Berlin, pp 424–441
5. Kilbourn RG, DeAngelo J, Bonaventura J (1997) **Clinical effects of cell-free hemoglobin, a scavenger of nitric oxide, in septic shock.** In: Vincent JL (ed) *Yearbook of intensive care and emergency medicine.* Springer, Berlin, pp 230–239
6. Kasper SM, Grüne F, Walter M, Amr N, Erasmi H, Buzello W (1998) **The effects of increased doses of bovine hemoglobin on hemodynamics and oxygen transport in patients undergoing preoperative hemodilution for elective abdominal aortic surgery.** *Anesth Analg* 87:284–291
7. Horn E-P, Standl T, Wilhelm S, Jabobs EE, Freitag U, Freitag M, Schulte am Esch J (1998) **Bovines Hämoglobin HBOC-201 verhindert eine Reduktion des Sauerstoffpartialdrucks im poststenotischen Skelettmuskel.** *Anaesthesist* 47:116–123
8. Seekamp A, Blankenburg H, Griensven M van, Regel G (1998) **Intramuskuläres pO₂-Monitoring des Kompartmentsyndroms – Eine experimentelle Studie.** *Zentralbl Chir* 123:285–292
9. Zywiets F, Reeker W, Kochs E (1995) **Tumor oxygenation in a transplanted rat rhabdomyosarcoma during fractionated irradiation.** *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 32:1391–1400
10. Boekstegers P, Weidenhöfer S, Kapsner T, Werdan K (1994) **Skeletal muscle partial pressure of oxygen in patients with sepsis.** *Crit Care Med* 22:640–650
11. Steinberg B, Kochs E, Bause HW, Schulte am Esch J (1989) **Einflüsse von niedermolekularer Hydroxyäthylstärke (HÄS 40) im Vergleich zu Ringer-Lösung auf die Sauerstoffspannung des Skelettmuskels beim septischen Patienten.** *Anaesthesist* 37:719–720
12. Steinberg B, Bause H, Wiedemann S, Schulte am Esch J (1989) **Veränderung der Sauerstoffspannung im Skelettmuskel in Abhängigkeit vom arteriellen Sauerstoffpartialdruck beim Intensivpatienten.** *Anaesthesist* 38 [Suppl]: 485
13. Burmeister MA, Horn EP, Redmann G, Knoll K, Standl T, Schulte am Esch J (1998) **Erhöhung der Sauerstoffspannung im Skelettmuskel durch Steigerung der inspiratorischen Sauerstoffkonzentration unter Isofluran.** *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 38 [Suppl 3]:S 170
14. Standl T, Reeker W, Redmann G, Kochs E, Werner C, Schulte am Esch J (1997) **Haemodynamic changes and skeletal muscle oxygen tension during complete blood exchange with ultrapurified polymerized bovine haemoglobin.** *Intensive Care Med* 23:865–872
15. Standl T, Horn P, Wilhelm S, Greim C, Freitag M, Freitag U, Sputtek A, Jacobs E, Schulte am Esch J (1996) **Bovine haemoglobin is more potent than autologous red blood cells in restoring muscular tissue oxygenation after profound isovolaemic haemodilution in dogs.** *Can J Anaesth* 43:714–723
16. Standl T, Burmeister MA, Horn EP, Wilhelm S, Knoefel WT, Schulte am Esch J (1998) **Bovine haemoglobin-based oxygen carrier for patients undergoing haemodilution before liver resection.** *Br J Anaesth* 80:189–194
17. Page TC, Light WR, Ckay CB, Hellums JD (1998) **Oxygen transport by erythrocyte/hemoglobin solution mixtures in an in vitro capillary as a model of hemoglobin-based oxygen carrier performance.** *Microvasc Res* 55:54–64
18. Federspiel WJ, Popel AS (1986) **A theoretical analysis of the effect of the particulate nature of blood on oxygen release in capillaries.** *Microvasc Res* 32:164–189
19. Federspiel WJ (1989) **Pulmonary diffusing capacity: implications of two-phase blood flow in capillaries.** *Respir Physiol* 77:119–134
20. Honig CR, Frierson JL, Gayeski TE (1989) **Anatomical determinants of O₂ flux density at coronary capillaries.** *Am J Physiol* 256:375–382
21. Standl T, Lipfert B, Reeker W, Schulte am Esch J, Lorke DE (1996) **Akute Auswirkungen eines kompletten Blutaustauschs mit ultragereinigter Hämoglobinlösung oder Hydroxyäthylstärke auf Leber und Niere in Tiermodell.** *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 31:354–361
22. Homer LD, Weathersby PK, Kiesow LA (1981) **Oxygen gradients between red blood cells in the microcirculation.** *Microvasc Res* 22:308–323